



B/4

PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

<p>(51) 国際特許分類6 C12N 15/12, 15/63, C12P 21/02, C07K 14/52, 14/82, 16/24, 16/32, C12Q 1/02</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO98/48015</p> <p>(43) 国際公開日 1998年10月29日(29.10.98)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP98/01782</p> <p>(22) 国際出願日 1998年4月17日(17.04.98)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平9/116402 1997年4月18日(18.04.97) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 株式会社 中外分子医学研究所 (CHUGAI RESEARCH INSTITUTE FOR MOLECULAR MEDICINE, INC.)[JP/JP] 〒300-4101 茨城県新治郡新治村永井153番地2 Ibaraki, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてののみ) ジョーンズ マイケル エイチ. (JONES, Michael, H.)[GB/JP] 〒300-4101 茨城県新治郡新治村永井153番地2 株式会社 中外分子医学研究所内 Ibaraki, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 清水初志, 外(SHIMIZU, Hatsushi et al.) 〒300-0847 茨城県土浦市御町1-1-1 関鉄つくばビル6階 Ibaraki, (JP)</p>	<p>(81) 指定国 AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, GW, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), ユーロパ特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>	
<p>(54)Title: TRANSCRIPTIONAL REGULATOR</p> <p>(54)発明の名称 転写調節因子</p> <p>(57) Abstract A gene encoding a novel transcriptional regulator having a bromo domain has been successfully isolated from a human testis cDNA library by effecting polymerase chain reactions employing primers prepared based on an EST sequence which has a high homology with a transcriptional regulatory factor "RING3" having a bromo domain and has been found out by retrieving a data base with the use of the sequence of "RING3". By analyzing the expression of the isolated gene, it has been found out that this gene is expressed strongly in testicular cells with a potent ability to proliferate. The use of the above transcriptional regulator and its gene makes it possible to screen candidate compounds for factors interacting with the transcriptional regulator or drugs controlling the activity of the regulator.</p>		

(57)要約

プロモドメイン配列を有する転写調節因子「RING3」の配列を用いたデータベース検索により見出した「RING3」と高い相同性を示すESTの一つの配列を基にプライマーを調製してポリメラーゼ連鎖反応を行い、ヒト精巣cDNAライブラリーから、プロモドメインを有する新規な転写調節因子をコードする遺伝子を単離することに成功した。単離した遺伝子の発現解析を行った結果、該遺伝子が増殖能の高い精巣細胞において強く発現していることを見出した。さらに、該転写調節因子およびその遺伝子を利用することにより、該転写調節因子に相互作用する因子や該転写調節因子の活性を制御する医薬品候補化合物のスクリーニングを行うことが可能であることを見出した。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AL	アルバニア	FI	フィンランド	LR	リベリア	SK	スロヴァキア
AM	アルメニア	FR	フランス	LS	レソト	SL	シエラ・レオネ
AT	オーストリア	GA	ガボン	LT	リトアニア	SN	セネガル
AU	オーストラリア	GB	英国	LU	ルクセンブルグ	SZ	スワジランド
AZ	アゼルバイジャン	GD	グレナダ	LV	ラトヴィア	TD	チャード
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE	グルジア	MC	モナコ	TC	トーゴ
BB	バルバドス	GH	ガーナ	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BE	ベルギー	GM	ガンビア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BF	ブルキナ・ファソ	GN	ギニア	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア 共和国	TR	トルコ
BG	ブルガリア	GW	ギニア・ビサウ	ML	マリ	TT	トリニダード・トバゴ
BJ	ベナン	GR	ギリシャ	MN	モンゴル	UA	ウクライナ
BR	ブラジル	HR	クロアチア	MR	モーリタニア	UG	ウガンダ
BY	ベラルーシ	HU	ハンガリー	MW	マラウイ	US	米国
CA	カナダ	ID	インドネシア	MX	メキシコ	UZ	ウズベキスタン
CF	中央アフリカ	IE	アイルランド	NE	ニジェール	VN	ヴェトナム
CG	コンゴ	IL	イスラエル	NL	オランダ	YU	ユーゴスラビア
CH	スイス	IS	アイスランド	NO	ノルウェー	ZW	ジンバブエ
CI	コートジボアール	IT	イタリア	NZ	ニュージーランド		
CM	カメルーン	JP	日本	PL	ポーランド		
CN	中国	KE	ケニア	PT	ポルトガル		
CU	キューバ	KP	北朝鮮	RO	ルーマニア		
CY	キプロス	KR	韓国	RU	ロシア		
CZ	チェッコ	KZ	カザフスタン	SD	スーダン		
DE	ドイツ	LC	セントルシア	SE	スウェーデン		
DK	デンマーク	LI	リヒテンシュタイン	SG	シンガポール		
EE	エストニア	LK	スリ・ランカ	SI	スロヴェニア		
ES	スペイン						

## 明細書

## 転写調節因子

技術分野

本発明は、プロモドメインを有する新規な転写調節因子およびその遺伝子に関する。

背景技術

プロモドメインは、転写調節因子に見られる特徴的なアミノ酸のモチーフであり、他の転写調節因子などとの相互作用に関与すると考えられている。プロモドメインを有するタンパク質は、通常、1個または2個 (Tamkun JW et al.(1992). Nuc. Acids. Res., 20, 2603、Haynes SR et al. (1992). Nuc. Acids. Res., 20, 2603)、あるいは5個 (Nicolas RH and Goodwin GH. (1996). Gene, 175 (1 2), 233-240) のプロモドメインモチーフを含んでいる。このモチーフの見られる動物は広範囲にわたっており、例えば、酵母 (Winston F et al.(1987). Genetics, 115, 649-656、Laurent BC et al.(1991). Proc. Nat. Acad. Sci., USA 88, 2687-2691)、ショウジョウバエ (drosophila) ホメオ遺伝子 (Digan ME et al.(1986). Dev. Biol., 114, 161-169、Tamkun JW et al.(1992). Cell, 68, 561-572) や哺乳動物 (Denis GV, and Green MR.(1996). Genes and Devel., 10, 261-271、Yang X J et al.(1996). Nature, 382, 319-324) の転写調節遺伝子などで同定されている。

プロモドメインを有する転写調節因子を比較すると、これらのすべては活発に増殖している細胞でシグナル依存性の転写を調節している (Tamkun JW et al.(1992). Cell, 68, 561-572、Haynes SR et al. (1992). Nuc. Acids. Res., 20, 2603)。この特徴は、プロモドメインを有するタンパク質をコードする遺伝子の

正常な制御が行われない場合に発癌する可能性があることを示唆している。現に、実験によって、プロモドメインを有するヒトの転写調節因子、「RING3」、「p300/CBP」、及び「PCAF」が癌に影響していることが示されている。

このうち「RING3」遺伝子は、クラスIIヒト主要組織適合抗原系 (Beck et al., (1992) DNA Seq., 2: 203-210)の配列を広く解析する間に同定された。RING3によりコードされるタンパク質は、ヒト遺伝子「D26362」(Nomura et al., (1994) DNA Res., 1:223-229)およびショウジョウバエ遺伝子「fsh」(Digan et al., (1986) 114: 161-169)と相同性を有する。3つの遺伝子は全て、二つの保存されたモチーフを有するタンパク質をコードする。即ち、2コピーのプロモドメインおよびPEST配列である。プロモドメインは、タンパク質-タンパク質相互作用に関与すると考えられている、59~63アミノ酸のモチーフであり転写を調節するタンパク質(Tamkun JW et al. (1992). Nuc. Acids. Res., 20, 2603; Haynes SR et al. (1992). Nuc. Acids. Res., 20, 2603)に見出される。PEST配列は、急速な細胞内分解 (Rodgers et al., (1986) Science, 234:364)を受けるタンパク質の特徴である、プロリン (P)、グルタミン酸 (E)、セリン (S)、およびスレオニン (T) のクラスターである。

「RING3」によりコードされるタンパク質は90kDの分子量を有し、セリンスレオニンキナーゼ活性を有する(Denis and Green, (1996) Genes and Devel., 10:261-271)。「RING3」および「fsh」の配列を既知のセリンスレオニンキナーゼのキナーゼドメインと比較すると、キナーゼモチーフのサブドメインが保存されているが、その順序は一定でない(ほとんどが癌原遺伝子c-mosの相当するサブドメインと類似している)ことが示された。「RING3」のキナーゼ活性は、インターロイキン-1 (IL-1) およびフォスコリンにより刺激されるが、他の一定の領域のサイトカインでは刺激されない(Denis and Green, (1996) Genes and Devel., 10:261-271)。慢性リンパ性白血病および急性リンパ性白血病におけるキナーゼ活性と増殖期との密接な関係より、白血病誘発を調節する経路における「RING3」の役

割が、示唆される(Denis and Green,(1996) Genes and Devel.,10:261-271)。ショウジョウバエの「fsh」の遺伝子解析により、推定の「fsh」リン酸化活性の標的である可能性がある「trithorax」転写因子との相互作用が示される(Digan et al.,(1986) Dev. Biol.,114:161-169、Mozer and Dawid, (1989) Proc.Natl.Acad.Sci.86:3738-3742)。「trithorax」遺伝子とそのヒト相同「ALL-1」は、白血病休止点に見られる多くの遺伝子に共通のC4HC3ジンクフィンガーを有する(Aasland et al.,(1995) Trends Biochem. Sci. 20: 56-59、Saha et al.,(1995) Proc. Nat. Acad. Sci.92:9737-9741)。

一方、「RING3」に加えて、少なくとも2つの他のプロモドメインタンパク質、「p300/CBP」および「PCAF」が、腫瘍形成と関連づけられている。「p300」タンパク質と「CBP」タンパク質は2つの異なる遺伝子によりコードされるが、極めて密接に関連しており、したがって「p300/CBP」と呼ばれることが多い。「CBP」の変異は、家族性癌および散发性癌に見出されている。「CBP」の変異は、患者に様々な悪性腫瘍を形成するルビンスタイン-テイビ(Rubinstein-Taybi)症候群の原因となる(Petrij et al.,(1995) Nature, 376: 348-51)。さらに、いくつかの急性骨髄性白血病において、「CBP」は、「t(8;16)(p11;p13)転座」において「M0Z」と融合している(Borrow et al.,(1996) Nature Genet.,14:33-41)。この融合タンパク質は、異常なアセチルトランスフェラーゼ活性により、白血病誘発の原因となっている可能性がある(Brownwell and Allis,(1996) Curr.Opin.Genet.Devel.,6:176-184)。「p300」の変異は、散发性の大腸癌および胃癌においても同定されており(Muraoka et al., (1996) Oncogene,12,1565-1569)、「p300」が染色体22qにおける腫瘍抑制因子遺伝子であることが示唆されている。癌における「p300/CBP」の役割を示すもう一つの事実は、それが既知の癌遺伝子と相互作用することである。例えば、それは、「c-Myb」(Dai et al.,(1996) Genes and Devel.,10:528-540)および「c-Fos」転写因子(Bannister and Kouzarides,(1996) Nature 384:641-643)の共同活性化因子(coactivator)であり、アデノウイ

ルス「E1A」タンパク質が結合する (Yang et al., (1996) Nature, 382:319-324)。「E1A」の「p300/CBP」との相互作用は、プロモドメインタンパク質「PCAF」により阻害される。

また、「p300/CBP」と同様、「PCAF」はヒストンアセチルトランスフェラーゼ活性を有する。「PCAF」は、外因的に発現させたときに、培養細胞におけるE1Aに関連する増殖を減少させることができる (Yang et al., (1996) Nature, 382:319-324)。従って、E1A癌遺伝子活性の第一の機構の一つは、「PCAF」-「p300」相互作用の阻害であるのかもしれない。

このようにプロモドメインを有する転写調節因子は、その調節異常が種々の疾患、例えば、癌と密接に関与していると考えられる。このためプロモドメインを有する転写調節因子は、癌治療のための新しい標的として近年注目されている。

#### 発明の開示

本発明は、プロモドメインを有する新規な転写調節因子および該転写調節因子をコードするDNAを提供することを課題とする。また、本発明は該DNAが挿入されたベクター、該DNAを保持する形質転換体、該形質転換体を利用した組み換えタンパク質の生産方法を提供することを課題とする。さらに、本発明は、該転写調節因子に結合する化合物のスクリーニング方法を提供することを課題とする。

本発明者らは上記課題を解決するために、まず、プロモドメイン配列を有する転写調節因子「RING3」の配列を用いてデータベースを検索し、「RING3」と高い相同性を示す複数のEST配列を見出した。次いで、これらESTの一つの配列を基にプライマーを調製し、ヒト精巣cDNAライブラリーに対して該プライマーを利用したポリメラーゼ連鎖反応を行った。その結果、プロモドメインを有する新規な転写調節因子をコードする遺伝子を単離することに成功した。また、本発明者らは単離した遺伝子の発現解析を行った結果、該遺伝子が増殖能の高い精巣細胞において強く発現していることを見出した。さらに、本発明者らは、該転写調節因

子およびその遺伝子を利用することにより、該転写調節因子に相互作用する因子や該転写調節因子の活性を制御する医薬品候補化合物のスクリーニングを行うことが可能であることを見出した。

即ち、本発明は、プロモドメインを有する新規な転写調節因子およびその遺伝子、並びにこれらを利用した関連因子および医薬品候補化合物のスクリーニング方法に関し、より具体的には、

- (1) 配列番号：1に記載のアミノ酸配列、または該アミノ酸配列において1若しくは複数のアミノ酸が置換、欠失、若しくは付加したアミノ酸配列を有し、プロモドメインを有する転写調節因子、
- (2) 配列番号：2に記載の塩基配列からなるDNAとハイブリダイズするDNAがコードし、プロモドメインを有する転写調節因子、
- (3) (1)または(2)に記載の転写調節因子をコードするDNA、
- (4) (3)に記載のDNAを含むベクター、
- (5) (3)に記載のDNAを発現可能に保持する形質転換体、
- (6) (5)に記載の形質転換体を培養する工程を含む、(1)または(2)に記載の転写調節因子の製造方法、
- (7) (1)または(2)に記載の転写調節因子に結合する抗体、
- (8) (1)または(2)に記載の転写調節因子に結合する活性を有する化合物のスクリーニング方法であって、
  - (a) (1)または(2)に記載の転写調節因子と被験試料とを接触させる工程、
  - (b) (1)または(2)に記載の転写調節因子と結合する活性を有する化合物を選択する工程、を含む方法、
- (9) (8)に記載の方法により単離しうる、(1)または(2)に記載の転写調節因子に結合する活性を有する化合物、
- (10) 天然由来である、(9)に記載の化合物、
- (11) 配列番号：2に記載の塩基配列からなるDNAと特異的にハイブリダイズ

し、少なくとも15ヌクレオチドの鎖長を有するDNA、に関する。

なお、本発明において「転写調節因子」とは、遺伝子の発現を調節しているタンパク質を指す。また、「プロモドメイン」とは、シグナル依存的な転写に関連している転写調節因子中で保存されているタンパク質-タンパク質相互作用に関与するアミノ酸のモチーフを指す。

本発明は、プロモドメインを有する新規な転写調節因子に関する。本発明の転写調節因子に含まれる「TSB」と命名されたタンパク質のアミノ酸配列を配列番号：1に、該タンパク質をコードするcDNAの塩基配列を配列番号：2に示す。「TSB」タンパク質は、一般に他の転写調節因子などとの相互作用に関与する領域として知られており、癌などに関与している転写調節因子に特徴的なモチーフである、プロモドメイン（配列番号：1に記載のアミノ酸配列の49～109番目および292～352番目）を有する（図1）。また、精巣細胞において強い発現を示す（実施例4）。これら事実、は、「TSB」タンパク質が、他のプロモドメインを有する転写調節因子と同様に、細胞増殖性疾患および癌に関連している可能性、特に精巣癌に関連している可能性を示唆するものであり、この機能において特にプロモドメインが重要な役割を果たしていると考えられる。このため「TSB」タンパク質や後述するこれと機能的に同等な転写調節因子には、細胞増殖性疾患や癌の予防や治療への利用が考えられる。

本発明の転写調節因子は、遺伝子組み換え技術を用いて組み換えタンパク質として調製する他、天然のタンパク質として調製することも可能である。本発明の転写調節因子には、これら双方のタンパク質が含まれる。本発明の転写調節因子は組み換えタンパク質であれば、例えば、後述する本発明の転写調節因子をコードするDNA（例えば、配列番号：2に記載の塩基配列からなるDNA）を適当な発現ベクターに組み込み、これを宿主細胞に導入して得た形質転換体から精製するなどの方法により調製することが可能である。また、天然のタンパク質であれば、例えば、組み換えタンパク質若しくはその部分ペプチドを小動物に免疫すること

により得た抗体を用いたカラムを調製し、本発明の転写調節因子の発現の高い組織もしくは細胞（例えば、精巣）の抽出物に対し該カラムを用いたアフィニティークロマトグラフィーを行うなどの方法により調製することが可能である。

また、本発明は、「TSB」タンパク質と機能的に同等なタンパク質に関する。このようなタンパク質を単離するための方法としては、タンパク質中のアミノ酸に変異を導入する方法が当業者によく知られている。即ち、当業者にとっては、例えば、PCRによる部位特異的変異誘発システム（GIBCO-BRL社、Gaithersburg, Maryland）、オリゴヌクレオチドによる部位特異的変異誘発法（Kramer, W. and Fritz, HJ (1987) *Methods in Enzymol.*, 154:350-367）など種々の方法を利用して、配列番号：1に示された「TSB」タンパク質において、その機能に影響を与えないアミノ酸を適宜置換などして、「TSB」タンパク質と機能的に同等なタンパク質を単離することは通常行いうることである。また、アミノ酸の変異は自然界においても生じることがある。本発明の転写調節因子には、「TSB」タンパク質（配列番号：1）中のアミノ酸配列において1もしくは複数のアミノ酸が置換、欠失もしくは付加されたアミノ酸配列を有し、「TSB」タンパク質と機能的に同等な転写調節因子も含まれる。変異するアミノ酸の数は、「TSB」タンパク質と同等の機能を保持する限り特に制限はない。通常、50アミノ酸以内であり、好ましくは30アミノ酸以内であり、さらに好ましくは10アミノ酸以内であり、さらに好ましくは5アミノ酸以内である。変異部位は、「TSB」タンパク質と同等の機能を保持する限り、いかなる部位であってもよい。

また、機能的に同等なタンパク質を単離するための他の方法としては、ハイブリダイゼーション技術（Sambrook, J et al., *Molecular Cloning* 2nd ed. 9.47-9.58, Cold Spring Harbor Lab. press, 1989）を利用する方法が当業者によく知られている。即ち、当業者であれば、「TSB」タンパク質をコードするDNA（配列番号：2）若しくはその一部を基に、これと相同性の高いDNAを単離して、該DNAから「TSB」タンパク質と機能的に同等なタンパク質を得ることも通常行いうことで

ある。このように「TSB」タンパク質をコードするDNAとハイブリダイズするDNAがコードするタンパク質であって、「TSB」タンパク質と機能的に同等な転写調節因子もまた本発明の転写調節因子に含まれる。機能的に同等なタンパク質を単離するための生物としては、ヒト以外に、例えば、マウス、ラット、ウシ、サル、ブタなどが挙げられる。機能的に同等なタンパク質をコードするDNAを単離するためのハイブリダイゼーションのストリンジェンシーは、当業者であれば適宜選択することができるが、通常、「42°C、2xSSC、0.1% SDS」程度であり、好ましくは「50°C、2xSSC、0.1% SDS」程度、あるいは「65°C、2xSSC、0.1% SDS」程度と、温度を上げる程に高い相同性を有するDNAを得ることができる。高い相同性とは、「TSB」タンパク質とアミノ酸配列において、通常、40%以上の相同性、好ましくは60%以上の相同性、さらに好ましくは80%以上の相同性、さらに好ましくは95%以上の相同性を指す。このようなハイブリダイゼーション技術により単離される転写調節因子は、プロモドメインを保持していることが好ましい。また、他のタンパク質のリン酸化を行う機能を有するセリンスレオニンキナーゼドメイン、急速な細胞内分解を受けるタンパク質に特徴的な配列であるPEST配列や、タンパク質を核へ移行させる機能を担う核移行シグナル配列を有しうる。なお、タンパク質中にプロモドメインが存在するか否かは、DNASIS（日立ソフトウェアエンジニアリング社製）上のプロモドメインモチーフPROSITEデータベースを検索することにより決定することが可能である。

また、本発明は、上記本発明のタンパク質をコードするDNAに関する。本発明のDNAとしては、上記本発明のタンパク質をコードしうるものであれば特に制限はなく、cDNA、ゲノムDNA、化学合成DNAなどが含まれる。本発明のDNAは、cDNAであれば、例えば、配列番号：2に記載の塩基配列を基にプライマーを調製し、ブランクPCRを行うことにより調製することが可能である（例えば、文献「Affara NA et al (1994) Genomics, 22, 205-210」参照）。また、ゲノムDNAであれば、例えば、「Qiagen genomic DNA kits」（Qiagen社製, Hilden, Germany）を用いた常

法により調製することが可能である。得られたDNAの塩基配列は、市販の「dye terminator sequencing kit」(Applied Biosystems社製)などを用いて常法により決定することが可能である。本発明のDNAは、後述するように、組み換えタンパク質の生産や遺伝子治療などに利用することが可能である。

また、本発明は、本発明のDNAが挿入されたベクターに関する。本発明のベクターには、本発明のタンパク質を生体内で発現させるためのベクター、組み換えタンパク質を調製するためのベクターなどが目的に応じて種々のベクターが含まれる。本発明のタンパク質を生体内で発現させるため(特に遺伝子治療のため)に用いられるベクターとしては、例えば、アデノウイルスベクター「pAdexLcw」やレトロウイルスベクター「pZIPneo」などが挙げられる。本発明のタンパク質を生産する目的においてベクターを使用する場合には、特に、発現ベクターが有用である。発現ベクターとしては特に制限はないが、例えば、大腸菌(E.coli)を用いる場合には「pREP4」(Qiagen社製,Hilden,Germany)などが、酵母を用いる場合には「SP-Q01」(Stratagene社製,La Jolla,California)などが、昆虫細胞を用いる場合には「BAC-to-BAC baculovirus expression system」(GIBCO-BRL社製,Gaithersburg,Maryland)などが好ましい。また、哺乳動物細胞、例えば、CHO細胞、COS細胞、NIH3T3細胞などを用いる場合には、例えば、「LacSwitch II expression system」(Stratagene社製,La Jolla,California)などが好適である。ベクターへの本発明のDNAの挿入は、常法により行うことができる。

また、本発明は、本発明のDNAを発現可能に保持する形質転換体に関する。本発明の形質転換体には、本発明のDNAが挿入された上記ベクターを保持するもの、本発明のDNAが宿主ゲノム内に組み込まれているものなどが含まれるが、本発明のDNAを発現可能に保持している限り、あらゆる存在形態のものが含まれる。本発明のベクターが導入される細胞としては特に制限はない。ex vivo法による遺伝子治療目的で本発明のタンパク質を発現させるために用いる場合には、疾患の種類に応じて種々の細胞を標的細胞とすることが可能である。また、本発明のタンパク

質を製造する目的の場合には、用いるベクターとの組み合わせにおいて、例えば、大腸菌、酵母、動物細胞、昆虫細胞などを用いることが可能である。細胞へのベクターの導入は、例えば、電氣的穿孔法、リン酸カルシウム法などの方法で行うことが可能である。なお、組み換えタンパク質を製造するために作製した形質転換体からの組み換えタンパク質の分離、精製は、常法により行うことが可能である。

また、本発明は、本発明の転写調節因子と結合する抗体に関する。本発明の抗体の形態には、特に制限はなく、ポリクローナル抗体の他、モノクローナル抗体も含まれる。また、ウサギなどに本発明のタンパク質を免疫して得た抗血清、すべてのクラスのポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体、さらに遺伝子組み換えによるヒト型化抗体、ヒト抗体も含まれる。本発明の抗体は、以下の方法により調製することが可能である。ポリクローナル抗体であれば、例えば、本発明の転写調節因子若しくはその部分ペプチドをウサギなどの小動物に免疫し血清を得て、これを本発明の転写調節因子をカップリングさせたアフィニティーカラムにより、本発明の転写調節因子のみを認識する画分を得て、さらにこの画分から免疫グロブリンGあるいはMを、プロテインA、あるいはプロテインGカラムにより精製することにより調製することができる。また、モノクローナル抗体であれば、本発明の転写調節因子をマウスなどの小動物に免疫を行い、同マウスより脾臓を摘出し、これをすりつぶして細胞にし、マウスミエローマ細胞とポリエチレングリコールなどの試薬により融合させ、これによりできた融合細胞（ハイブリドーマ）の中から、本発明の転写調節因子に結合する抗体を産生するクローンを選択する。次いで、得られたハイブリドーマをマウス腹腔内に移植し、同マウスより腹水を回収し、得られたモノクローナル抗体を、例えば、硫酸沈殿、プロテインA、プロテインGカラム、DEAEイオン交換クロマトグラフィー、本発明のタンパク質をカップリングしたアフィニティーカラムなどにより精製することで調製することが可能である。本発明の抗体は、本発明の転写調節因子の精製や検出に

用いられる他、本発明の転写調節因子の機能を抑制するための薬剤として用いることも可能である。抗体を薬剤として用いる場合には、免疫原性の点で、ヒト抗体またはヒト化抗体が有効である。ヒト抗体またはヒト化抗体は当業者に公知の方法により調製することができる。例えば、ヒト抗体は、免疫系をヒトと入れ換えたマウスに本発明の転写調節因子を免疫することにより調製することが可能である。また、ヒト化抗体は、モノクローナル抗体産生細胞から抗体遺伝子をクローニングし、その抗原決定部位を既存のヒト抗体に移植するCDRグラフト法により調製することが可能である。

また、本発明は、本発明の転写調節因子に結合する化合物のスクリーニング方法に関する。本発明のスクリーニング法は、(a) 本発明の転写調節因子と被検試料とを接触させる工程、および(b) 本発明の転写調節因子に結合する活性を有する化合物を選択する工程を含む。スクリーニングに用いる被検試料としては特に制限はなく、例えば、合成低分子化合物のライブラリー、精製タンパク質、遺伝子ライブラリーの発現産物、合成ペプチドのライブラリー、細胞抽出液、細胞培養上清などが挙げられる。本発明の転写調節因子に結合する活性を有する化合物を選択する方法としては、当業者に公知の多くの方法を用いることができる。

本発明の転写調節因子と結合するタンパク質のスクリーニングは、例えば、本発明の転写調節因子と結合するタンパク質を発現していることが予想される組織若しくは細胞（例えば、精巣）よりファージベクター（ $\lambda$ gt11, ZAPIIなど）を用いたcDNAライブラリーを作製し、これをLB-アガロース上で発現させフィルターに発現させたタンパク質を固定し、本発明の転写調節因子をビオチンラベル、あるいはGSTタンパク質との融合タンパク質として精製し、これを上記フィルターと反応させ、結合するタンパク質を発現しているブランクを、ストレプトアビジン、あるいは抗GST抗体により検出する「ウエストウエスタンブロッティング法」(Sko lnik EY, Margolis B, Mohammadi M, Lowenstein E, Fischer R, Drepps A, Ull rich A, and Schlessinger J (1991)Cloning of PI3 kinase-associated p85 ut

ilizing a novel method for expression/cloning of target proteins for receptor tyrosine kinases. Cell 65, 83-90) により実施することが可能である。また、本発明の転写調節因子をSRF結合領域またはGAL4結合領域と融合させて酵母細胞の中で発現させ、本発明の転写調節因子と結合するタンパク質を発現していることが予想される細胞より、VP16またはGAL4転写活性化領域と融合する形で発現するようなcDNAライブラリーを作製し、これを上記酵母細胞に導入し、検出された陽性クローンからライブラリー由来cDNAを単離して大腸菌に導入して発現させる（酵母細胞内で本発明の転写調節因子と結合するタンパク質が発現すると、両者の結合によりレポーター遺伝子が活性化され、陽性のクローンが確認できる）「twoハイブリッドシステム」（「MATCHMARKER Two-Hybrid System」, 「Mammalian MATCHMAKER Two-Hybrid Assay Kit」, 「MATCHMAKER One-Hybrid System」（いずれもclontech社製）、「HybriZAP Two-Hybrid Vector System」（stratagene社製）、文献「Dalton S, and Treisman R (1992)Characterization of SAP-1, a protein recruited by serum response factor to the c-fos serum response element. Cell 68, 597-612」）に従い実施することも可能である。さらに、本発明の転写調節因子を固定したアフィニティーカラムに本発明の転写調節因子と結合するタンパク質を発現していることが予想される細胞の培養上清もしくは細胞抽出物をのせ、カラムに特異的に結合するタンパク質を精製することにより実施することも可能である。

また、固定した本発明の転写調節因子に、合成化合物、または天然物バンク、もしくはランダムファージペプチドディスプレイライブラリーを作用させ、結合する分子をスクリーニングする方法や、コンビナトリアルケミストリー技術によるハイスループットを用いたスクリーニング (Wrighton NC; Farrell FX; Chang R; Kashyap AK; Barbone FP; Mulcahy LS; Johnson DL; Barrett RW; Joliffe LK; Dower WJ., Small peptides as potent mimetics of the protein hormone erythropoietin, Science (UNITED STATES) Jul 26 1996, 273 p458-64, Ve

rdine GL., The combinatorial chemistry of nature. Nature (ENGLAND) Nov 7 1996, 384 p11-13, Hogan JC Jr., Directed combinatorial chemistry. Nature (ENGLAND) Nov 7 1996, 384 p17-9) により本発明の転写調節因子に結合する、低分子化合物、タンパク質（またはその遺伝子）、ペプチドなどを単離する方法も当業者に周知の技術である。本発明のスクリーニング法により単離される化合物は、本発明の転写調節因子の活性を促進または阻害するための薬剤の候補となる。本発明のスクリーニング方法により単離される化合物を薬剤として用いる場合には、公知の製剤学的製造法により製剤化して用いることが可能である。例えば、薬理学上許容される担体または媒体（生理食塩水、植物油、懸濁剤、界面活性剤、安定剤など）とともに患者に投与される。投与は、化合物の性質に応じて、経皮的、鼻腔内的、経気管支的、筋内的、静脈内、または経口的に行うことが可能である。

また、本発明は、「TSB」タンパク質をコードするDNAと特異的にハイブリダイズし、少なくとも15ヌクレオチドの鎖長を有するDNAに関する。ここで「特異的にハイブリダイズする」とは、通常のハイブリダイゼーション条件下、好ましくはストリンジентなハイブリダイゼーション条件下で、他のタンパク質をコードするDNAとクロスハイブリダイゼーションが有意に生じないことを指す。このようなDNAは、「TSB」タンパク質をコードするDNAを検出、単離するためのプローブとして、また増幅するためのプライマーとして利用可能である。具体的なプライマーとしては、例えば、配列番号：3または4に記載のプライマーが挙げられる。

#### 図面の簡単な説明

図1は、オープンリーディングフレームのアミノ酸翻訳と整列させた「TSB」の核酸配列を示す図である。また、PROSITEデータベース検索により同定された3つのモチーフを下線で示す。2つのプロモドメイン(アミノ酸49-109および292-352)およびPEST配列(アミノ酸636-672)が存在する。

図2は、「TSB」、「RING3」、および「fsh」の推定キナーゼドメインのアミノ酸配列の比較を示す。なお、キナーゼサブドメインは、「Denis and Green (1996) Genes and Devel., 10: 261-271」に開示されたものであり、サブドメインI～IIを除外している。数は、「TSB」の翻訳の位置に対応する。保存された残基には影をつけた。

図3は、「TSB」の存在位置を示す。放射線ハイブリッド解析により決定された染色体1p上の隣接マーカーに対する相対的な位置が示してある。

図4は、Aは正常組織における「TSB」のノーザン解析を示したものである。1は心臓、2は脳、3は胎盤、4は肺、5は肝臓、6は骨格筋、7は腎臓、8は膵臓、9は脾臓、10は胸腺、11は前立腺、12は精巣、13は卵巣、14は小腸、15は結腸（粘膜内層）、16は末梢血白血球を示す。Bは癌細胞株における「TSB」のノーザン解析を示し、1は前骨髄球性白血病HL-60、2はHeLaS3細胞、3は慢性骨髄性白血病K-562、4はリンパ芽球性白血病MOLT-4、5はバーキットリンパ腫Raji、6は大腸腺癌SW480、7は肺癌A549、8は黒色腫G361を示す。分子量マーカーの位置を横に示した。

#### 発明を実施するための最良の形態

以下、本発明を実施例により具体的に説明するが、本発明はこれら実施例に制限されるものではない。

〔実施例1〕 「RING3」と相同性を有するESTの同定および全長配列の単離

ESTデータベースのBLAST検索に、「RING3」遺伝子のDNA配列(Beck et al., (1992) DNA Seq., 2:203-210)を使用し、プローブ配列と相同性のある多数のESTを同定した。これらのESTのうち一つ、精巣特異的cDNAライブラリー由来の「H64204」(Diatchenko et al., (1996) Proc. Nat. Acad. Sci. 93:6025-6030)は、「RING3」と285bpにわたって65%の配列相同性を有していた。

EST「H64204」全長のクローニングを行うためにEST配列からPCRプライマーU「配列番号:3: AATGTCTCTGCCAAGTCGACAA」およびL「配列番号:4: AGCATCCACAGGA

CGTTGAAAG」を設計し、精巢cDNAを鋳型としてPCRを行った。PCRは、94°Cで8分、続いて「94°Cで30秒（熱変性）、60°Cで1分（アニーリング）、72°Cで1分（伸長）」を35サイクル行った。なお、PCRには酵素として「AmpliTa<sup>q</sup> gold」（Perkin Elmer社製）を用いた。この結果、175bpのPCR産物が得られた。次いで、このPCR産物をプローブとして用い、精巢cDNAライブラリー（Clontech社製 HL3024 a）をスクリーニングした。なお、プローブはすべて、ランダムプライミングにより[ $\alpha$ -<sup>32</sup>P]dCTPで標識し、クロマスピン10カラム（Chromaspin 10 columns）（Clontech社製）で精製した。また、ハイブリダイゼーションは、「ExpressHyb hybridization solution」（Clontech社製）中で65°Cで1時間行った。フィルターを「1x SSC、0.1% SDS、65°C」という最終ストリンジェンシーで洗浄した。cDNAクローンの配列をESTと整列させたものを用いて、さらにライブラリーを再スクリーニングした。遺伝子の完全なコード領域の全長配列を与える一連のオーバーラップクローンが得られるまで、この過程を反復した。この結果、塩基106～塩基2946のオープンリーディングフレーム（ORF）に947アミノ酸をコードする3104bpの連続配列が得られた。ORFには、60bpの短い3'非翻訳領域が続いており、それは20bp上流でポリアデニル化シグナル（ATTAAA）をもつポリAテールで終結した。本発明者らは単離クローンを「TSB（testis specific bromodomain）」と銘々した。「TSB」の推定アミノ酸配列を併記した塩基配列を配列番号：2に示す。また、推定アミノ酸配列を配列番号：1に示す。なお、塩基配列は、ABI色素ターミネーター化学を用いて、ABI377自動配列決定機（Perkin Elmer社製）で決定した。

#### 〔実施例2〕 相同性およびモチーフ

アミノ酸配列でのタンパク質データベース検索より、「RING3」（66%相同、649アミノ酸にわたり59%同一）、「D26362」（62%相同、649アミノ酸にわたり56%同一）および「fsh」（62%相同、565アミノ酸にわたり56%同一）と、もっとも相同性の高いものを同定した。

PROSITEを用いたアミノ酸配列のモチーフ検索により、2つのプロモドメイン（ア

ミノ酸49-109および292-352)が同定された。さらに、アミノ酸636-672にPEST 配列 (Rodgers et al., (1986) Science, 234:364) が存在した。これらのモチーフの位置を図1に示す。

また、「RING3」はセリンスレオニンキナーゼ活性を有することが知られているため(Denis and Green, (1996) Genes and Devel., 10:261-271)、「TSB」のアミノ酸配列を推定「RING3」キナーゼドメインと比較した。アミノ酸配列の比較は、GCGにおけるBestfitを用いて実施した。この結果、「TSB」において推定「RING3」キナーゼドメイン配列が極めてよく保存されていることが判明した(図2)。しかし、推定ATP結合ドメインをコードするキナーゼサブドメインI、および触媒性リジンをコードするキナーゼサブドメインIIが欠失してため、「TSB」においてはキナーゼ活性が失われている可能性があることが示された。

また、「RING3」タンパク質は核に局在することが知られているため、PSORTプログラムを用いて、TSBについて推定核移行シグナルを同定した。この結果、4残基の核移行シグナルが、4コピー(488位、489位、575位、および919位)、ロビンズ・アンド・ディンクウォール・コンセンサス (Robbins and Dingwall consensus) (Robbins and Dingwall, (1991) Cell, 64: 615-23)が2コピー(445位および603位)見出された。このことから「RING3」と同様に、「TSB」も核に局在することが示された。

### 【実施例3】 「TSB」のマッピング

「TSB」の染色体上の位置を同定するため、プライマーU (配列番号:3) およびL (配列番号:4) を用いて、「Coriell Cell Repositories, New Jersey」(Dubois and Naylor, (1993) Genomics, 16: 315-319)から得られた24単染色体ヒト/げっ歯動物体細胞系からDNAを増幅した。

TSBの局在する領域は、同様にプライマーU (配列番号:3) およびL (配列番号:4) を用いて、1パネルの単染色体ハイブリッド細胞系をスクリーニングした。この結果、予想される175bp産物は、ヒト第1染色体について単染色体性である細胞

系「GM13139」からのみ増幅された。「GeneBridge4 radiation hybrid panel」(Walter et al.,(1994) Nature Genetics 7: 22-28) に対しても同じプライマーをPCRに用いた。「<http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/contig/rhmapper.pl>」に位置するサーバーを用いて、各ハイブリッドが増幅陽性か陰性かをスコア化することにより得られたバイナリーコードを、フレームワークマップを形成するマーカーについての同様なコードと比較した。この過程を繰り返し、独立にスコア化した。両実験で同一のバイナリーコードが得られ、「TSB」がマーカー「W1-7719」と「WI-3099」(D1S2154)の間の染色体1pであることが示された(図3)。

#### 【実施例4】 「TSB」発現の解析

1パネルの16正常組織のノーザン解析を、精巣cDNAをプライマーU (配列番号: 3) およびL (配列番号:4) でPCR増幅することにより調製したプローブを用いて行った。この結果、精巣において、プローブは約3.5kbのmRNAと強力にハイブリダイズし、4.0kbのmRNAとも程度は低いがハイブリダイズした(図4A)。この事実は、「TSB」を同定するために用いたESTの精巣特異的ライブラリー起源と一致した(Diatchenko et al.,(1996) Proc. Nat. Acad. Sci. 93: 6025-6030)。さらに、プローブは、普遍的に発現する2つのmRNA(約2.0および4.5kb)とも交差ハイブリダイズした。プローブはプロモドメインをコードする配列を含むため、これらの転写物は他のプロモドメイン遺伝子と一致する可能性がある。なお、いくつかの精巣特異的遺伝子と同様、MAGEファミリー(van der Bruggen et al.,(1991) Science, 254:1643-1647)の顕著なメンバーが他の癌組織で発現し、他の癌におけるプロモドメイン遺伝子の役割を与えている可能性があるため、正常組織のパネルと同時に、8つの癌細胞系由来のmRNAの1パネルもスクリーニングした。この結果、「TSB」の発現は、試験した細胞系においてはいずれも検出されなかった(図4B)。同様に、10の肺癌試料のパネルは、TSB発現について陰性であった(データは示していない)。なお、ハイブリダイゼーションの条件は、実施例1と同様にした。

#### 産業上の利用可能性

本発明によりプロモドメインを有する新規な転写調節因子、該転写調節因子をコードするDNA、該DNAを含むベクター、該DNAを発現可能に保持する形質転換体、該転写調節因子に結合する抗体、該転写調節因子に結合する化合物のスクリーニング方法が提供された。本発明の転写調節因子は、癌に関与していると考えられている転写調節因子「RING3」とファミリーを形成していると考えられ、また精巣において強い発現が見られる。従って、本発明の転写調節因子および該転写調節因子をコードするDNAは、細胞増殖性疾患および癌、特に精巣癌、あるいは精子形成不全または精子機能不全に基づく上記疾患治療薬あるいは避妊薬のスクリーニングに用いることも可能である。また、本発明の転写調節因子に結合する抗体やその他の化合物は、該治療薬としての使用が考えられる。

配列表

- (1) 出願人の氏名又は名称： 株式会社中外分子医学研究所  
 (2) 発明の名称： 転写調節因子  
 (3) 整理番号： C 2 - 9 0 2 P C T  
 (4) 出願番号：  
 (5) 出願日：  
 (6) 配列の数： 4

配列番号： 1

配列の長さ： 947

配列の型： アミノ酸

トポロジー： 直鎖状

配列の種類：タンパク質

配 列

Met Ser Leu Pro

1

Ser Arg Gln Thr Ala Ile Ile Val Asn Pro Pro Pro Pro Glu Tyr Ile

5 10 15 20

Asn Thr Lys Lys Asn Gly Arg Leu Thr Asn Gln Leu Gln Tyr Leu Gln

25 30 35

Lys Val Val Leu Lys Asp Leu Trp Lys His Ser Phe Ser Trp Pro Phe

40 45 50

Gln Arg Pro Val Asp Ala Val Lys Leu Lys Leu Pro Asp Tyr Tyr Thr

55 60 65

Ile Ile Lys Asn Pro Met Asp Leu Asn Thr Ile Lys Lys Arg Leu Glu

70 75 80

Asn Lys Tyr Tyr Ala Lys Ala Ser Glu Cys Ile Glu Asp Phe Asn Thr  
 85                      90                      95                      100  
 Met Phe Ser Asn Cys Tyr Leu Tyr Asn Lys Pro Gly Asp Asp Ile Val  
                     105                      110                      115  
 Leu Met Ala Gln Ala Leu Glu Lys Leu Phe Met Gln Lys Leu Ser Gln  
                     120                      125                      130  
 Met Pro Gln Glu Glu Gln Val Val Gly Val Lys Glu Arg Ile Lys Lys  
                     135                      140                      145  
 Gly Thr Gln Gln Asn Ile Ala Val Ser Ser Ala Lys Glu Lys Ser Ser  
                     150                      155                      160  
 Pro Ser Ala Thr Glu Lys Val Phe Lys Gln Gln Glu Ile Pro Ser Val  
 165                      170                      175                      180  
 Phe Pro Lys Thr Ser Ile Ser Pro Leu Asn Val Val Gln Gly Ala Ser  
                     185                      190                      195  
 Val Asn Ser Ser Ser Gln Thr Ala Ala Gln Val Thr Lys Gly Val Lys  
                     200                      205                      210  
 Arg Lys Ala Asp Thr Thr Thr Pro Ala Thr Ser Ala Val Lys Ala Ser  
                     215                      220                      225  
 Ser Glu Phe Ser Pro Thr Phe Thr Glu Lys Ser Val Ala Leu Pro Pro  
                     230                      235                      240  
 Ile Lys Glu Asn Met Pro Lys Asn Val Leu Pro Asp Ser Gln Gln Gln  
 245                      250                      255                      260  
 Tyr Asn Val Val Glu Thr Val Lys Val Thr Glu Gln Leu Arg His Cys  
                     265                      270                      275  
 Ser Glu Ile Leu Lys Glu Met Leu Ala Lys Lys His Phe Ser Tyr Ala  
                     280                      285                      290

Trp Pro Phe Tyr Asn Pro Val Asp Val Asn Ala Leu Gly Leu His Asn  
 295 300 305  
 Tyr Tyr Asp Val Val Lys Asn Pro Met Asp Leu Gly Thr Ile Lys Glu  
 310 315 320  
 Lys Met Asp Asn Gln Glu Tyr Lys Asp Ala Tyr Ser Phe Ala Ala Asp  
 325 330 335 340  
 Val Arg Leu Met Phe Met Asn Cys Tyr Lys Tyr Asn Pro Pro Asp His  
 345 350 355  
 Glu Val Val Thr Met Ala Arg Met Leu Gln Asp Val Phe Glu Thr His  
 360 365 370  
 Phe Ser Lys Ile Pro Ile Glu Pro Val Glu Ser Met Pro Leu Cys Tyr  
 375 380 385  
 Ile Lys Thr Asp Ile Thr Glu Thr Thr Gly Arg Glu Asn Thr Asn Glu  
 390 395 400  
 Ala Ser Ser Glu Gly Asn Ser Ser Asp Asp Ser Glu Asp Glu Arg Val  
 405 410 415 420  
 Lys Arg Leu Ala Lys Leu Gln Glu Gln Leu Lys Ala Val His Gln Gln  
 425 430 435  
 Leu Gln Val Leu Ser Gln Val Pro Phe Arg Lys Leu Asn Lys Lys Lys  
 440 445 450  
 Glu Lys Ser Lys Lys Glu Lys Lys Lys Glu Lys Val Asn Asn Ser Asn  
 455 460 465  
 Glu Asn Pro Arg Lys Met Cys Glu Gln Met Arg Leu Lys Glu Lys Ser  
 470 475 480  
 Lys Arg Asn Gln Pro Lys Lys Arg Lys Gln Gln Phe Ile Gly Leu Lys  
 485 490 495 500

Ser Glu Asp Glu Asp Asn Ala Lys Pro Met Asn Tyr Asp Glu Lys Arg  
 505 510 515  
 Gln Leu Ser Leu Asn Ile Asn Lys Leu Pro Gly Asp Lys Leu Gly Arg  
 520 525 530  
 Val Val His Ile Ile Gln Ser Arg Glu Pro Ser Leu Ser Asn Ser Asn  
 535 540 545  
 Pro Asp Glu Ile Glu Ile Asp Phe Glu Thr Leu Lys Ala Ser Thr Leu  
 550 555 560  
 Arg Glu Leu Glu Lys Tyr Val Ser Ala Cys Leu Arg Lys Arg Pro Leu  
 565 570 575 580  
 Lys Pro Pro Ala Lys Lys Ile Met Met Ser Lys Glu Glu Leu His Ser  
 585 590 595  
 Gln Lys Lys Gln Glu Leu Glu Lys Arg Leu Leu Asp Val Asn Asn Gln  
 600 605 610  
 Leu Asn Ser Arg Lys Arg Gln Thr Lys Ser Asp Lys Thr Gln Pro Ser  
 615 620 625  
 Lys Ala Val Glu Asn Val Ser Arg Leu Ser Glu Ser Ser Ser Ser Ser  
 630 635 640  
 Ser Ser Ser Ser Glu Ser Glu Ser Ser Ser Ser Asp Leu Ser Ser Ser  
 645 650 655 660  
 Asp Ser Ser Asp Ser Glu Ser Glu Met Phe Pro Lys Phe Thr Glu Val  
 665 670 675  
 Lys Pro Asn Asp Ser Pro Ser Lys Glu His Val Lys Lys Met Lys Asn  
 680 685 690  
 Glu Cys Ile Leu Pro Glu Gly Arg Thr Gly Val Thr Gln Ile Gly Tyr  
 695 700 705

Cys Val Gln Asp Thr Thr Ser Ala Asn Thr Thr Leu Val His Gln Thr  
 710 715 720  
 Thr Pro Ser His Val Met Pro Pro Asn His His Gln Leu Ala Phe Asn  
 725 730 735 740  
 Tyr Gln Glu Leu Glu His Leu Gln Thr Val Lys Asn Ile Ser Pro Leu  
 745 750 755  
 Gln Ile Leu Pro Pro Ser Gly Asp Ser Glu Gln Leu Ser Asn Gly Ile  
 760 765 770  
 Thr Val Met His Pro Ser Gly Asp Ser Asp Thr Thr Met Leu Glu Ser  
 775 780 785  
 Glu Cys Gln Ala Pro Val Gln Lys Asp Ile Lys Ile Lys Asn Ala Asp  
 790 795 800  
 Ser Trp Lys Ser Leu Gly Lys Pro Val Lys Pro Ser Gly Val Met Lys  
 805 810 815 820  
 Ser Ser Asp Glu Leu Phe Asn Gln Phe Arg Lys Ala Ala Ile Glu Lys  
 825 830 835  
 Glu Val Lys Ala Arg Thr Gln Glu Leu Ile Arg Lys His Leu Glu Gln  
 840 845 850  
 Asn Thr Lys Glu Leu Lys Ala Ser Gln Glu Asn Gln Arg Asp Leu Gly  
 855 860 865  
 Asn Gly Leu Thr Val Glu Ser Phe Ser Asn Lys Ile Gln Asn Lys Cys  
 870 875 880  
 Ser Gly Glu Glu Gln Lys Glu His Pro Gln Ser Ser Glu Ala Gln Asp  
 885 890 895 900  
 Lys Ser Lys Leu Trp Leu Leu Lys Asp Arg Asp Leu Ala Arg Pro Lys  
 905 910 915

Glu Gln Glu Arg Arg Arg Arg Glu Ala Met Val Gly Thr Ile Asp Met

920

925

930

Thr Leu Gln Ser Asp Ile Met Thr Met Phe Glu Asn Asn Phe Asp

935

940

945

配列番号 : 2

配列の長さ : 3104

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 二本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA to mRNA

配列の特徴

特徴を表す記号 : CDS

存在位置 : 106 .. 2946

特徴を決定した方法 : E

配 列

GGCAAGATGT TCCTGGGAGG TCAAGTTAAG AGTCAAAAAT AATTCATTAG ATTAAACAAT 60

TTAGCATGGA CATGTACTTG TAGACAGGAT TCAAAGCAGT TAAGA ATG TCT CTG CCA 117

Met Ser Leu Pro

1

AGT CGA CAA ACA GCT ATT ATT GTT AAC CCT CCT CCA CCA GAA TAT ATA 165

Ser Arg Gln Thr Ala Ile Ile Val Asn Pro Pro Pro Pro Glu Tyr Ile

5

10

15

20

AAT ACT AAG AAA AAT GGG CGA TTG ACA AAT CAA CTT CAG TAT CTA CAA 213

Asn Thr Lys Lys Asn Gly Arg Leu Thr Asn Gln Leu Gln Tyr Leu Gln

25

30

35

AAA GTT GTC CTA AAG GAT TTA TGG AAG CAT AGT TTT TCA TGG CCC TTT	261
Lys Val Val Leu Lys Asp Leu Trp Lys His Ser Phe Ser Trp Pro Phe	
40 / 45 50	
CAA CGT CCT GTG GAT GCT GTG AAA CTA AAG TTG CCT GAT TAT TAT ACC	309
Gln Arg Pro Val Asp Ala Val Lys Leu Lys Leu Pro Asp Tyr Tyr Thr	
55 60 65	
ATT ATA AAA AAC CCA ATG GAT TTA AAT ACA ATT AAG AAG CGC TTG GAG	357
Ile Ile Lys Asn Pro Met Asp Leu Asn Thr Ile Lys Lys Arg Leu Glu	
70 75 80	
AAT AAA TAT TAT GCG AAG GCT TCA GAA TGT ATA GAA GAC TTC AAT ACA	405
Asn Lys Tyr Tyr Ala Lys Ala Ser Glu Cys Ile Glu Asp Phe Asn Thr	
85 90 95 100	
ATG TTC TCA AAT TGT TAT TTA TAT AAC AAG CCT GGA GAT GAC ATT GTT	453
Met Phe Ser Asn Cys Tyr Leu Tyr Asn Lys Pro Gly Asp Asp Ile Val	
105 110 115	
CTT ATG GCA CAA GCT CTA GAG AAG CTG TTT ATG CAG AAA TTA TCT CAG	501
Leu Met Ala Gln Ala Leu Glu Lys Leu Phe Met Gln Lys Leu Ser Gln	
120 125 130	
ATG CCA CAA GAA GAG CAA GTT GTG GGT GTT AAG GAA AGA ATC AAG AAA	549
Met Pro Gln Glu Glu Gln Val Val Gly Val Lys Glu Arg Ile Lys Lys	
135 140 145	
GGC ACT CAA CAG AAT ATA GCT GTT TCT TCT GCT AAA GAA AAA TCA TCA	597
Gly Thr Gln Gln Asn Ile Ala Val Ser Ser Ala Lys Glu Lys Ser Ser	
150 155 160	
CCC AGC GCA ACA GAA AAA GTA TTT AAG CAG CAA GAA ATT CCT TCT GTA	645
Pro Ser Ala Thr Glu Lys Val Phe Lys Gln Gln Glu Ile Pro Ser Val	

165	170	175	180	
TTT CCT AAG ACA TCT ATT TCT CCC TTG AAC GTG GTA CAG GGA GCT TCA				693
Phe Pro Lys Thr Ser Ile Ser Pro Leu Asn Val Val Gln Gly Ala Ser				
	185	190	195	
GTC AAC TCC AGT TCA CAA ACT GCG GCC CAA GTT ACA AAA GGT GTG AAG				741
Val Asn Ser Ser Ser Gln Thr Ala Ala Gln Val Thr Lys Gly Val Lys				
	200	205	210	
AGG AAA GCA GAT ACA ACA ACT CCT GCA ACT TCA GCA GTT AAA GCA AGT				789
Arg Lys Ala Asp Thr Thr Thr Pro Ala Thr Ser Ala Val Lys Ala Ser				
	215	220	225	
AGT GAA TTT TCT CCA ACA TTC ACA GAA AAA TCA GTG GCA CTG CCA CCT				837
Ser Glu Phe Ser Pro Thr Phe Thr Glu Lys Ser Val Ala Leu Pro Pro				
	230	235	240	
ATA AAA GAA AAT ATG CCA AAG AAT GTT TTG CCA GAT TCT CAG CAA CAA				885
Ile Lys Glu Asn Met Pro Lys Asn Val Leu Pro Asp Ser Gln Gln Gln				
245	250	255	260	
TAT AAT GTT GTG GAG ACT GTT AAA GTA ACT GAA CAA TTA AGG CAC TGT				933
Tyr Asn Val Val Glu Thr Val Lys Val Thr Glu Gln Leu Arg His Cys				
	265	270	275	
AGT GAG ATT CTT AAA GAA ATG CTT GCA AAG AAA CAT TTT TCA TAT GCA				981
Ser Glu Ile Leu Lys Glu Met Leu Ala Lys Lys His Phe Ser Tyr Ala				
	280	285	290	
TGG CCC TTT TAT AAT CCT GTT GAC GTT AAT GCT TTG GGA CTC CAT AAC				1029
Trp Pro Phe Tyr Asn Pro Val Asp Val Asn Ala Leu Gly Leu His Asn				
	295	300	305	
TAC TAT GAC GTT GTC AAA AAT CCG ATG GAT CTT GGA ACT ATT AAG GAG				1077

Tyr Tyr Asp Val Val Lys Asn Pro Met Asp Leu Gly Thr Ile Lys Glu  
 310 315 320  
 AAA ATG GAT AAC CAA GAA TAT AAG GAT GCA TAC TCA TTT GCG GCA GAT 1125  
 Lys Met Asp Asn Gln Glu Tyr Lys Asp Ala Tyr Ser Phe Ala Ala Asp  
 325 330 335 340  
 GTT AGA TTA ATG TTC ATG AAT TGC TAC AAG TAC AAT CCT CCA GAT CAC 1173  
 Val Arg Leu Met Phe Met Asn Cys Tyr Lys Tyr Asn Pro Pro Asp His  
 345 350 355  
 GAA GTT GTG ACA ATG GCA AGA ATG CTT CAG GAT GTT TTC GAA ACG CAT 1221  
 Glu Val Val Thr Met Ala Arg Met Leu Gln Asp Val Phe Glu Thr His  
 360 365 370  
 TTT TCA AAG ATC CCG ATT GAA CCT GTT GAG AGT ATG CCT TTA TGT TAC 1269  
 Phe Ser Lys Ile Pro Ile Glu Pro Val Glu Ser Met Pro Leu Cys Tyr  
 375 380 385  
 ATC AAA ACA GAT ATC ACA GAA ACC ACT GGT AGA GAG AAC ACT AAT GAA 1317  
 Ile Lys Thr Asp Ile Thr Glu Thr Thr Gly Arg Glu Asn Thr Asn Glu  
 390 395 400  
 GCC TCC TCT GAA GGG AAC TCT TCT GAT GAT TCT GAA GAT GAG CGA GTT 1365  
 Ala Ser Ser Glu Gly Asn Ser Ser Asp Asp Ser Glu Asp Glu Arg Val  
 405 410 415 420  
 AAG CGT CTT GCA AAG CTT CAG GAG CAG CTT AAA GCT GTA CAT CAA CAG 1413  
 Lys Arg Leu Ala Lys Leu Gln Glu Gln Leu Lys Ala Val His Gln Gln  
 425 430 435  
 CTC CAG GTT TTG TCC CAA GTA CCT TTC CGT AAG CTA AAT AAA AAG AAA 1461  
 Leu Gln Val Leu Ser Gln Val Pro Phe Arg Lys Leu Asn Lys Lys Lys  
 440 445 450

GAG AAG TCT AAA AAG GAA AAG AAA AAA GAA AAG GTT AAT AAC AGC AAT	1509
Glu Lys Ser Lys Lys Glu Lys Lys Lys Glu Lys Val Asn Asn Ser Asn	
455 460 465	
GAA AAT CCA AGA AAA ATG TGT GAG CAA ATG AGG CTA AAG GAA AAG TCC	1557
Glu Asn Pro Arg Lys Met Cys Glu Gln Met Arg Leu Lys Glu Lys Ser	
470 475 480	
AAG AGA AAT CAG CCA AAG AAA AGG AAA CAA CAG TTC ATT GGT CTA AAA	1605
Lys Arg Asn Gln Pro Lys Lys Arg Lys Gln Gln Phe Ile Gly Leu Lys	
485 490 495 500	
TCT GAA GAT GAA GAT AAT GCT AAA CCT ATG AAC TAT GAT GAG AAA AGG	1653
Ser Glu Asp Glu Asp Asn Ala Lys Pro Met Asn Tyr Asp Glu Lys Arg	
505 510 515	
CAG TTA AGT CTG AAT ATA AAC AAA CTC CCT GGA GAT AAA CTT GGG CGA	1701
Gln Leu Ser Leu Asn Ile Asn Lys Leu Pro Gly Asp Lys Leu Gly Arg	
520 525 530	
GTA GTT CAC ATA ATA CAA TCA AGA GAG CCT TCT CTG AGC AAT TCC AAT	1749
Val Val His Ile Ile Gln Ser Arg Glu Pro Ser Leu Ser Asn Ser Asn	
535 540 545	
CCT GAT GAG ATA GAG ATA GAC TTT GAA ACA CTG AAA GCA TCA ACA CTA	1797
Pro Asp Glu Ile Glu Ile Asp Phe Glu Thr Leu Lys Ala Ser Thr Leu	
550 555 560	
AGA GAA TTA GAA AAA TAT GTT TCG GCA TGT CTA AGA AAG AGA CCA TTA	1845
Arg Glu Leu Glu Lys Tyr Val Ser Ala Cys Leu Arg Lys Arg Pro Leu	
565 570 575 580	
AAA CCT CCT GCT AAG AAA ATA ATG ATG TCC AAA GAA GAA CTT CAC TCA	1893
Lys Pro Pro Ala Lys Lys Ile Met Met Ser Lys Glu Glu Leu His Ser	

585	590	595	
CAG AAA AAA CAG GAA TTG GAA AAG CGG TTA CTG GAT GTT AAT AAT CAG			1941
Gln Lys Lys Gln Glu Leu Glu Lys Arg Leu Leu Asp Val Asn Asn Gln			
600	605	610	
TTA AAT TCT AGA AAA CGT CAA ACA AAA TCT GAT AAA ACG CAA CCA TCC			1989
Leu Asn Ser Arg Lys Arg Gln Thr Lys Ser Asp Lys Thr Gln Pro Ser			
615	620	625	
AAA GCT GTT GAA AAT GTT TCC CGA CTG AGT GAG AGC AGC AGC AGC AGC			2037
Lys Ala Val Glu Asn Val Ser Arg Leu Ser Glu Ser Ser Ser Ser Ser			
630	635	640	
AGC AGC TCA TCA GAG TCT GAA AGT AGC AGC AGT GAC TTA AGC TCT TCA			2085
Ser Ser Ser Ser Glu Ser Glu Ser Ser Ser Ser Asp Leu Ser Ser Ser			
645	650	655	660
GAC AGC AGT GAT TCT GAA TCA GAA ATG TTC CCT AAG TTT ACA GAA GTA			2133
Asp Ser Ser Asp Ser Glu Ser Glu Met Phe Pro Lys Phe Thr Glu Val			
665	670	675	
AAA CCA AAT GAT TCT CCT TCT AAA GAG CAT GTA AAG AAA ATG AAG AAT			2181
Lys Pro Asn Asp Ser Pro Ser Lys Glu His Val Lys Lys Met Lys Asn			
680	685	690	
GAA TGC ATA CTG CCT GAA GGA AGA ACA GGC GTC ACA CAG ATA GGA TAT			2229
Glu Cys Ile Leu Pro Glu Gly Arg Thr Gly Val Thr Gln Ile Gly Tyr			
695	700	705	
TGT GTG CAA GAC ACA ACC TCT GCC AAT ACT ACC CTT GTT CAT CAG ACC			2277
Cys Val Gln Asp Thr Thr Ser Ala Asn Thr Thr Leu Val His Gln Thr			
710	715	720	
ACA CCT TCA CAT GTA ATG CCA CCA AAT CAC CAC CAA TTA GCA TTT AAT			2325

Thr Pro Ser His Val Met Pro Pro Asn His His Gln Leu Ala Phe Asn  
 725                      730                      735                      740  
 TAT CAA GAA TTA GAA CAT TTA CAG ACT GTG AAA AAC ATT TCA CCT TTA      2373  
 Tyr Gln Glu Leu Glu His Leu Gln Thr Val Lys Asn Ile Ser Pro Leu  
                          745                      750                      755  
 CAA ATT CTG CCT CCC TCA GGT GAT TCT GAA CAG CTC TCA AAT GGC ATA      2421  
 Gln Ile Leu Pro Pro Ser Gly Asp Ser Glu Gln Leu Ser Asn Gly Ile  
                          760                      765                      770  
 ACT GTG ATG CAT CCA TCT GGT GAT AGT GAC ACA ACG ATG TTA GAA TCT      2469  
 Thr Val Met His Pro Ser Gly Asp Ser Asp Thr Thr Met Leu Glu Ser  
                          775                      780                      785  
 GAA TGT CAA GCT CCT GTA CAG AAG GAT ATA AAG ATT AAG AAT GCA GAT      2517  
 Glu Cys Gln Ala Pro Val Gln Lys Asp Ile Lys Ile Lys Asn Ala Asp  
                          790                      795                      800  
 TCA TGG AAA AGT TTA GGC AAA CCA GTG AAA CCA TCA GGT GTA ATG AAA      2565  
 Ser Trp Lys Ser Leu Gly Lys Pro Val Lys Pro Ser Gly Val Met Lys  
 805                      810                      815                      820  
 TCC TCA GAT GAG CTC TTC AAC CAA TTT AGA AAA GCA GCC ATA GAA AAG      2613  
 Ser Ser Asp Glu Leu Phe Asn Gln Phe Arg Lys Ala Ala Ile Glu Lys  
                          825                      830                      835  
 GAA GTA AAA GCT CGG ACA CAG GAA CTC ATA CGG AAG CAT TTG GAA CAA      2661  
 Glu Val Lys Ala Arg Thr Gln Glu Leu Ile Arg Lys His Leu Glu Gln  
                          840                      845                      850  
 AAT ACA AAG GAA CTA AAA GCA TCT CAA GAA AAT CAG AGG GAT CTT GGG      2709  
 Asn Thr Lys Glu Leu Lys Ala Ser Gln Glu Asn Gln Arg Asp Leu Gly  
                          855                      860                      865

AAT GGA TTG ACT GTA GAA TCT TTT TCA AAT AAA ATA CAA AAC AAG TGC	2757
Asn Gly Leu Thr Val Glu Ser Phe Ser Asn Lys Ile Gln Asn Lys Cys	
870 875 880	
TCT GGA GAA GAG CAG AAA GAA CAT CCG CAG TCA TCA GAA GCT CAA GAT	2805
Ser Gly Glu Glu Gln Lys Glu His Pro Gln Ser Ser Glu Ala Gln Asp	
885 890 895 900	
AAA TCC AAA CTC TGG CTT CTC AAA GAC CGT GAT TTA GCC AGG CCG AAA	2853
Lys Ser Lys Leu Trp Leu Leu Lys Asp Arg Asp Leu Ala Arg Pro Lys	
905 910 915	
GAA CAA GAG AGG AGG AGG AGA GAA GCC ATG GTG GGT ACC ATT GAT ATG	2901
Glu Gln Glu Arg Arg Arg Arg Glu Ala Met Val Gly Thr Ile Asp Met	
920 925 930	
ACC CTT CAA AGT GAC ATT ATG ACA ATG TTT GAA AAC AAC TTT GAT	2946
Thr Leu Gln Ser Asp Ile Met Thr Met Phe Glu Asn Asn Phe Asp	
935 940 945	
TAAAACTCAG TTTTAAATT AACCATCCAC TTAAATGAA TGGTAAAAGA TCAAAATGCA	3006
TATGGTAAAA TGATTGCTTT CAGATAACAA GATACCAATC TTATATTGTA TTTTGACTGC	3066
TCTAAAATGA TTAAACAGTT TTCACCTTACA AAAAAAAA	3104

配列番号 : 3

配列の長さ : 22

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

AATGTCTCTG CCAAGTCGAC AA

22

配列番号 : 4

配列の長さ : 22

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

AGCATCCACA GGACGTTGAA AG

22

## 請求の範囲

1. 配列番号：1に記載のアミノ酸配列、または該アミノ酸配列において1若しくは複数のアミノ酸が置換、欠失、若しくは付加したアミノ酸配列を有し、プロモドメインを有する転写調節因子。
2. 配列番号：2に記載の塩基配列からなるDNAとハイブリダイズするDNAがコードし、プロモドメインを有する転写調節因子。
3. 請求項1または2に記載の転写調節因子をコードするDNA。
4. 請求項3に記載のDNAを含むベクター。
5. 請求項3に記載のDNAを発現可能に保持する形質転換体。
6. 請求項5に記載の形質転換体を培養する工程を含む、請求項1または2に記載の転写調節因子の製造方法。
7. 請求項1または2に記載の転写調節因子に結合する抗体。
8. 請求項1または2に記載の転写調節因子に結合する活性を有する化合物のスクリーニング方法であって、
  - (a) 請求項1または2に記載の転写調節因子と被験試料とを接触させる工程、
  - (b) 請求項1または2に記載の転写調節因子と結合する活性を有する化合物を選択する工程、を含む方法。
9. 請求項8に記載の方法により単離しうる、請求項1または2に記載の転写調節因子に結合する活性を有する化合物。
10. 天然由来である、請求項9に記載の化合物。
11. 配列番号：2に記載の塩基配列からなるDNAと特異的にハイブリダイズし、少なくとも15ヌクレオチドの鎖長を有するDNA。

1 / 4

☒ 1

GGCAAGATGTTCTGGGAGGTCAAGTTAAGAGTCAAAAAATAATTCATTAGATTTAAACAATTTAGCATGGACATGTACTTGTAGACAGGAT 90  
 TCAAGCAGTTAAGAATGTCTCTGCCAAGTCGACAAACAGCTATTATTTGTTAACCTCTCCACCAGAATATATAAATACTAAGAAAAAT 180  
 M S L P S R Q T A I I V N P P P P E Y I N T K K N 25  
 GGGCGATTGACAAATCAACTTCAGTATCTACAAAAAGTTGTCTAAAGGATTTATGGAAGCATAGTTTTTCATGGCCCTTCAACGTCCT 270  
 G R L T N Q L Q Y L O K V V L K D L W K H S F S W P F Q R P 55  
 GTGGATGCTGTGAAACTAAAGTTGCCTGATTATTATACCATTTAAAAAACCCATGGATTTAAATACAATTAAGAAGCGCTTGGAGAAT 360  
 V D A V K L K L P D Y Y T I I K N P M D L N T T K K R L E N 85  
 AAATATTATGCGAAGGCTTCAGAATGTATAGAAGCTTCAATACAATGTTCTCAATTTGTTATTATATAACAAGCCTGGAGATGACATT 450  
 K Y Y A K A S E C I E D F N T M F S N C Y L Y N K P G D D I 115  
 GTTCTTATGGCACAAGCTCTAGAGAAGCTGTTTATGCAGAAATATCTCAGATGCCACAAGAAGCAAGTTGTGGGTGTTAAGGAAGA 540  
 V L M A Q A L E K L F M Q K L S Q M P Q E E O V V G V K E R 145  
 ATCAAGAAAGGCACTCAACAGAAATAGCTGTTTCTCTGCTAAAGAAAAATCATCACCAGCGCAACAGAAAAAGTATTTAAGCAGCAA 630  
 I K K G T O Q N I A V S S A K E K S S P S A T E K V F K Q Q 175  
 GAAATTCCTTCTGTATTCTTAAGACATCTATTTCTCCCTTGAACGTTGACAGGAGCTTCAGTCAACTCCAGTTTCAAACTGCGGCC 720  
 E I P S V F P K T S I S P L N V V Q G A S V N S S S Q T A A 205  
 CAAGTTTCAAAAGGTGTGAAGAGGAAGCAGATACAACAACCTCTGCAACTTCAGCAGTTAAAGCAAGTAGTAATTTTCCCAACTTC 810  
 Q V T K G V K R K A D T T T P A T S A V K A S S E F S P T F 235  
 ACAGAAATCAGTGGCACTGCCACCTATAAAGAAAAATATGCCAAAGAAATGTTTGGCAGATTCTCAGCAACAATATAATGTTGGAG 900  
 T E K S V A L P P I K E N M P K N V L P D S Q Q Q Y N V V E 265  
 ACTGTAAAGTAACTGAACAATTAAGGCACTGTAGTGAGATTCTTAAAGAAATGCTTGCAAAAGAAACATTTTCATATGCATGGCCCTTT 990  
 T V K V T E Q L R H C S E I L K E M L A K K H F S Y A W P F 295  
 TATAATCTGTGACGTTAATGCTTTGGGACTCCATACTACTATGACGTTGTCAAAAATCCGATGGATCTTGAACATTAAGGAGAAA 1080  
 Y N P V D V N A L G L H N Y Y D V V K N P M D L G T I K E K 325  
 ATGATAACCAAGAAATATAAGGATGCATACCTATTGCGGCAGATGTTAGATTAAATGTTTCATGAATTCGCTACAAGTACAATCTCCAGAT 1170  
 M D N Q E Y K D A Y S F A A D V R L M F M N C Y K Y N P P D 355  
 CACGAAGTTGTGACAAATGGCAAGAAATGCTTCAGGATGTTTTCGAAAGCAGATTTTCAAGATCCCGATTGAACCTGTTGAGAGTACCT 1260  
 H E V T M A R M L Q D V F E T H F S K I P I E P V S M P 385  
 TTATGTTACATCAAAACAGATATCACAGAAACCACTGGTAGAGAGAACACTAATGAAGCCTCTCTGAAGGAACTCTTCTGATGATTCT 1350  
 L C Y I K T D I T E T T G R E N T N E A S S E G N S S D D S 415  
 GAAGATGAGCGAGTTAAGCGTCTTGCAAGCTTCAGGAGCAGCTTAAAGCTGTACATCAACAGCTCCAGGTTTGTCCCAAGTACCTTTC 1440  
 E D E R V K R L A K L Q E Q L K A V H Q Q L Q V L S Q V P F 445  
 CGTAAGCTAAATAAAGAAAGAGAGTCTAAAAAGGAAAGAAAAAGAAAGGTTAATAACAGCAATGAAAAATCCAAGAAAAATGTGT 1530  
 GAGCAATGAGGCTAAAGGAAAAAGTCCAAGAGAAATCAGCCAAAGAAAGGAAACACAGTTCATTGGTCTAAATCTGAAGTGAAGAT 1620  
 E Q M R L K E K S K R N Q P K K R K Q Q F I G L K S E D D 505  
 AATGCTAAACCTATGAAGTATGATGAGAAAGGAGTAAAGTCTGAATATAAACAACCTCCCTGGAGATAAATCTGGCGAGTAGTTCAC 1710  
 N A K P M N Y D E K R Q L S L T N I N K L P G D K L G R V V H 535  
 ATAATCAACATCAAGAGAGCCTTCTCTGAGCAATCCCAATCTGATGAGATAGAGATAGACTTTGAACACTGAAGAGTCAACACTGAAGA 1800  
 I I Q S R E P S L S N S N P D E I E I D F E T L K A S T L R 565  
 GAATTAGAAAAATATGTTTCGGCATGTCTAAGAAAGAGACCATTTAAACCTCTGCTAAGAAAAATATGATGTCCTCAAGAAAGAACTTCAC 1890  
 E G L E K Y V S A C L R K R P L K P P A K K I M M S K E A L H 595  
 TCACAGAAAAAAGCAGGAATTTGAAAAAGCGGTTACTGGATGTTAATAACAGTTAAATCTAGAAAAAGCTCAACAAAAATCTGATAAAGC 1980  
 S Q K K Q E L E K R L L D V N N Q L N S R K R Q T K S D K T 625  
 CAACCATCCAAAGCTGTTGAAAAATGTTTCCGACTGAGTGAGAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGT 2070  
 Q P S K A V E N V S R L S E S S S S S S S S S S S S S S S 655  
 GACTTAAGCTCTTCAGACAGCAGTATTCTGAATCAGAAATGTTCCCTTAAGTTTACAGAAATAAACCAATGATTCTCTCTCTAAAGAG 2160  
 D L S S S D S S D S E S E M F P K F T E V K P N D S P S K E 685  
 CATGTAAAGAAATGAAGATGAATGCATACCTGCTGAAGGAAGAACAGGCGTCACACAGATAGGATATTGTGTCAAGACACAACCTCT 2250  
 H V K K M K N E C I L P E G R T G V T Q I G Y C V Q D T T S 715  
 GCCAATACTACCTTGTTCATCAGACCAACACCTTCACATGTAATGCCACCAAAATCACCACCAATTAGCATTTAATTATCAAGAAATTAGAA 2340  
 A N T T L V H Q T T P S H V M P P N H H Q L A F N Y Q E L E 745  
 CATTTACAGACTGTGAAAAACATTTACCTTTACAAATCTGCTCCCTCAGGTGATTCTGAACAGCTCTCAATGGCATAACTGTGATG 2430  
 H L Q T V K N I S P L Q I L P P S G D S E Q L S N G I T V M 775  
 CATCCATCTGGTGATAGTGACAAACGATGTTAGAATCTGAATGTCAAGCTCTGTACAGAAGGATATAAGATTAAAGATGACAGATTCA 2520  
 H P S G D S D T T M L E S E C Q A P V Q K D I K I K N A D S 805  
 TGGAAAAATTTAGGCAACCAAGTGAACCATCAGGTGTAATGAAATCCTCAGATGAGCTCTTCAACCAATTTAGAAAAAGCAGCATAGAA 2610  
 AAGGAAGTAAAGCTCGGACACAGGAATTTGGAACAAAAATACAAAGGAAGTAAAGCATCTCAAGAAAAATCAGAGG 2700  
 K E V K A R T Q E L I R K H L E Q N T K E L K A S Q E N Q R 865  
 GATCTTGGGAATGGATTGACTGTAGAAATCTTTTCAATAAAATACAAACAAGTGCTCTGGAGAAGAGCAGAAAGAACATCCGAGTCA 2790  
 D L G N G L T V E S F S N K I Q N K C S G E E Q K E H P Q S 895  
 TCAGAAAGCTCAAGATAAATCCAACTCTGGCTCTCAAGACCGTGATTTAGCCAGGCGCAAGAACAGAGAGGAGGAGAGAGAGAGCC 2880  
 S E A Q D K S K L W L L K D R D L A R P K E Q E R R R A E 925  
 ATGGTGGGTACCATGATATGACCTTCAAGAGTACATATGACAATGTTTGAACCAACTTTGATTAACCACTCAGTTTTAAATTAACC 2970  
 M V G T I D M T L Q S D I M Y M F E N N F D \* 947  
 ATCCACTTAAATGAATGGTAAAGATCAAAATGCATATGGTAAATGATTGCTTTTCAGATAACAGATACCAATCTTATATTGATTTT 3060  
 GACTGCTCTAAATGATTAAACAGTTTTCACTTACAAAAAAA 3104

2 / 4

☒ 2

	VIA	VIB	IX
	34	66	108
TSB	CSEILKEMLAKKHFS	YYTI IKNPMDL	YNKPGDDI VLMAQALE
RING3	YLHKVVMKALWKHQF	YHKI IKQPMOM	YNKPTDDI VLMAQTLE
fsh	YILKTVMKVIWKHHF	YHKI IKQPMOM	YNKPGEDV VVMAQTLE
	VIA (2)	VIB (2)	VIII
	276	309	331
TSB	CSEILKEMLAKKHFS	YDVVKNRMDL	YKDAYSF
RING3	CNGILKELLSKKHAA	YHDI KHPMDL	YRDAQEF
fsh	CNEILKELFSKKHSG	YHDI KHPMDL	YQSAPEF
	IX (2)	III	
	351	511	
TSB	YNPPDHEVVTMARMLOD	NYDEKRQL	
RING3	YNPPDHDVVAMARKLOD	SYDEKRQL	
fsh	YNPPDHDVVAMGRKLQD	SYDEKRQL	

3 / 4

図 3

位置／ マーカー	距離 (cRays)
WI-4820	8.4
AFMA205XD5	3.6
WI-7719	9.0
TSB	1.3
D1S2154	6.7
D1S236	10.0
WI-5391	

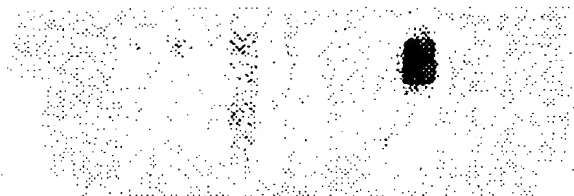
Chr 1p21-22

4 / 4

☒ 4

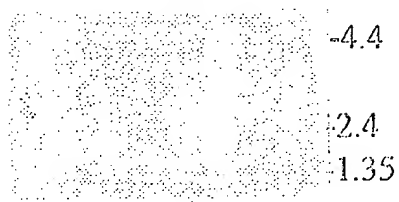
A

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16



B

1 2 3 4 5 6 7 8



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/01782

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.<sup>6</sup> C12N15/12, C12N15/63, C12P21/02, C07K14/52, C07K14/82,  
C07K16/24, C07K16/32, C12Q1/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.<sup>6</sup> C12N15/12, C12N15/63, C12P21/02, C07K14/52, C07K14/82,  
C07K16/24, C07K16/32, C12Q1/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG), GenBank/EMBL/DDBJ/Geneseq

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	Michael, H.J. et al., "Identification and Characterization of BRDT: A Testis-Specific Gene Related to the Bromodomain Genes RING3 and <i>Drosophila fsh</i> " Genomics 45 (1997, Nov.) p.529-534	1-11
X	Stephan, B. et al., "A homologue of the <i>Drosophila</i> female sterile homoetic ( <i>fsh</i> ) gene in the class II region of the human MHC" DNA Sequence 2 (1992) p.203-210	1-11
X	Susan R.H. et al., "The <i>Drosophila fsh</i> Locus, a Maternal Effect Homeotic Gene, Encodes Apparent Membrane Proteins" Developmental Biology 134 (1989) p.246-257	1-11
A	Nobuo, N. et al., "Prediction of the Coding Sequences of Unidentified Human Genes. II. The Coding Sequences of 40 New Genes (KIAA0041-KIAA0080) Deduced by Analysis of cDNA Clones from Human Cell Line KG-1" DNA Res. 1 (1994) p.223-229	1-11

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
July 7, 1998 (07. 07. 98)

Date of mailing of the international search report  
July 21, 1998 (21. 07. 98)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>o</sup> C12N15/12, C12N15/63, C12P21/02, C07K14/52,  
C07K14/82, C07K16/24, C07K16/32, C12Q1/02

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>o</sup> C12N15/12, C12N15/63, C12P21/02, C07K14/52,  
C07K14/82, C07K16/24, C07K16/32, C12Q1/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG), GenBank/EMBL/DDBJ/Geneseq

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
PX	Michael, H. J. et al. "Identification and Characterization of BRDT: A Testis-Specific Gene Related to the Bromodomain Genes RING3 and <i>Drosophila fsh</i> " Genomics 45 (1997, Nov.) p. 529-534	1-11
X	Stephan, B. et al. "A homologue of the <i>Drosophila</i> female sterile homoetic (fsh) gene in the class II region of the human MH C" DNA Sequence 2 (1992) p. 203-210	1-11
X	Susan R. H. et al. "The <i>Drosophila fsh</i> Locus, a Maternal Effect Homeotic Gene, Encodes Apparent Membrane Proteins" Developmental Biology 134 (1989) p. 246-257	1-11

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

07.07.98

国際調査報告の発送日

21.07.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

富士 良宏

印

4 B

9 5 4 9

電話番号 03-3581-1101 内線 3449

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	Nobuo, N. et al. "Prediction of the Coding Sequences of Unidentified Human Genes. II. The Coding Sequences of 40 New Genes(KIAA0041-KIAA0080) Deduced by Analysis of cDNA Clones from Human Cell Line KG-1" DNA Res. 1 (1994) p. 223-229	1-11